

# 玉米细胞质雄性不育机制研究现状

陈波,张燕

(西昌学院 农业科学学院,四川 西昌 615013)

**摘要:**雄性不育是作物育种中利用杂种优势的主要途径,玉米是世界上最早利用雄性不育系生产杂交种的作物之一,利用雄性不育系生产玉米杂交种,可以节省劳动力投入,降低种子成本,减少去雄不彻底造成的混杂,提高种子纯度,充分发挥杂种优势的增产潜力。综述了玉米细胞质雄性不育的分类,败育的细胞学特征,败育机理,以及育性恢复研究进展。

**关键词:**玉米;雄性不育;研究现状

**中图分类号:**S513;Q813.6

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2012)03-0147-05

雄性不育是指植株自身不能产生正常可育花粉的一种生物学现象,这种现象在被子植物中普遍存在。雄性不育可由环境因素诱导形成,如高温、干旱、低温冻害以及营养元素缺乏等,但是这些不育性状不能遗传给下一代,只有可遗传的雄性不育才能在育种中利用。按照遗传特点的不同,可遗传的雄性不育分为细胞核雄性不育(genome male sterility, GMS)和细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)。

玉米 CMS 的不育性状主要受线粒体基因的控制,可以通过母本遗传给下一代,而其育性恢复基因却存在于细胞核中。与 GMS 不同的是, CMS 的恢复系较少,而育性保持则相对容易一些,因此在生产上 CMS 的应用比 GMS 的应用要广泛,但由于存在诸多风险,如育性恢复不稳定、小斑病的专性侵染和败育/育性恢复机理未明确等,因此其应用也受到一定程度的限制。

## 1 玉米细胞质雄性不育的类型

玉米 CMS 自发现以来,已经报道的胞质类型已达 100 多种,这些不同名称的 CMS 多数都由发现者命名,为深入认识玉米 CMS 的发生机制,以及避免单一胞质类型的大面积应用,对 CMS 进行胞质类型划分以及发掘新的胞质类型具有重要意义。

20 世纪 70 年代,Beckett 等建立了利用育性

恢复专效性划分玉米 CMS 胞质类型的方法,即以 4 个自交系作父本对不同来源的 CMS 进行测交试验,根据  $F_1$  育性恢复与保持关系可以将玉米 CMS 分为 T、C、S 3 组:被 Tr 恢复育性的为 S 组;被 K55 保持育性的为 S 组;被 Tr 保持育性的为 C 组;同时被 Tr 和 W23 保持育性的为 T 组(见图 1)<sup>[1]</sup>。

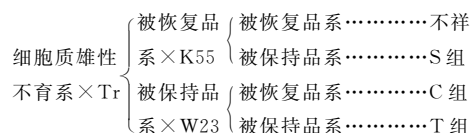


图 1 玉米 CMS 育性恢复专效性分类体系 1

Fig. 1 Designed effect of classification system 1 of maize CMS fertility restoration

以此为基础,郑用琰等利用 2 个国内常用自交系恢 313 和自风 1,建立了更为简便的育性恢复专效性体系:被恢 313 恢复育性的为 S 组;被恢 313 保持育性,而被自风 1 恢复育性的为 C 组;同时被恢 313 和自风 1 保持育性的为 T 组(见图 2)<sup>[2]</sup>。

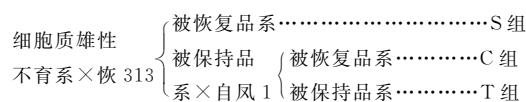


图 2 玉米 CMS 育性恢复专效性分类体系 2

Fig. 2 Designed effect of classification system 2 of maize CMS fertility restoration

随着玉米育种骨干自交系的更新和大量新选育自交系的使用,李小琴等将 55 个常用自交系与一套同核异质不育系进行测交,根据  $F_1$  的育性表现,将测验系分成 3 个集团,从任意两个集团中选择 2 个自交系,就可以根据育性恢复专效性进行

收稿日期:2011-11-29

基金项目:四川省教育厅重点研究资助项目(08ZA034)

第一作者简介:陈波(1978-),男,四川省大邑县人,在读博士,从事玉米遗传育种及种质资源研究。E-mail: chen-beau19782@126.com。

玉米 CMS 的分类(见图 3)<sup>[3]</sup>。

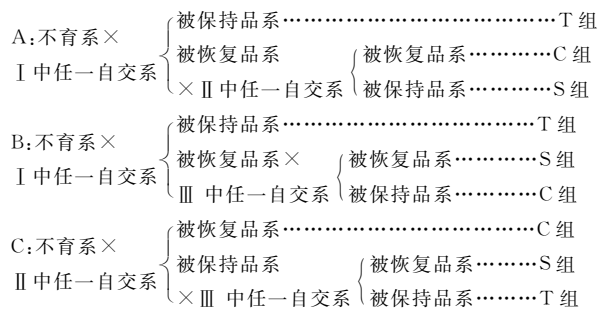


图 3 玉米 CMS 育性恢复专效性分类体系 3

Fig. 3 Designed effect of classification system 3 of maize CMS fertility restoration

自明确 CMS 败育相关基因位于线粒体基因组以来,在育性恢复专效性的基础上,Pring、李晚忱等研究者相继建立了玉米 CMS 分类的 RFLP 标记技术,利用酶/探针组合,不仅能区分 T、C、S 3 种胞质类型,还可以进行亚组的划分<sup>[4-5]</sup>。

T-*urf13*、*atp6*-C、*orf355-orf77* 分别是 T、C、S 胞质的特异基因片段,通过设计针对其保守区域的引物,可以采用 PCR 的方法快速鉴定玉米 CMS 胞质类型。罗红兵等利用恢复专效性测定和 PCR 归类两种方法研究了新选育的 GDS 细胞质雄性不育系的胞质类型,两种方法一致将 GDS 胞质列入 C 组<sup>[6-7]</sup>。

## 2 玉米 CMS 败育的细胞学特征

### 2.1 T 胞质不育系败育的细胞学特征

夏涛等<sup>[8]</sup>对 T 胞质小孢子败育的细胞结构研究表明,在小孢子发育的第一次减数分裂中期和稍后,中层细胞发生异常解体,此后,不育系小孢子母细胞可以正常地形成二分体和四分体,但部分四分体因胼胝质壁不能裂解,而粘连在一起,由共同的细胞壁包裹成团块状生长,游离的单核小孢子则出现各种形式的异常。单核早期,小孢子内充满着许多小液泡,绒毡层仍以完整的细胞状存在,有较致密的细胞质,表现出推迟解体,稍后则完全败育至花期,完全败育的花药是白色或褐色。

夏涛等还发现 T 胞质另外一种类型的败育特征,在小孢子母细胞时期,部分母细胞开始解体,同时细胞解体前,胞内充满着液泡,细胞质松散。在整个败育过程中,绒毡层仍以完整的形式存在。

### 2.2 C 胞质不育系败育的细胞学特征

夏涛<sup>[8]</sup>等对 77cms-C 小孢子的观察结果与 Warmke 和 Lee 的研究结果一致,他们都发现了两种败育类型,且这两种类型即使在同一花药的不同药室中都可能同时存在。第一种,四分孢子粘连成团块状生长而败育;能分离的小孢子也多数畸形、不育;绒毡层解体推迟;第二种,二分体时期,绒毡层细胞液泡化,细胞质靠边分布;四分体解体后,到单核早期,多数小孢子出现畸形,部分裂解、败育。而 Mol7cms-C 的败育表现与两种败育现象均不同,虽然也有四分体粘连现象,但绒毡层的排列方式和细胞壁结构均明显不同。

### 2.3 S 胞质不育系败育的细胞学特征

夏涛<sup>[8]</sup>等研究了 S 胞质材料 Mol7cms-唐徐、Mol7cms-双、77cms-唐徐和 77cms-M,在单核期以前各个材料花药发育正常。单核早期,四分体解体,能释放出正常的小孢子,但也发现此时 77cms-M 有些小孢子开始败育;单核中期,小孢子形成内、外两层细胞壁,除 Mol7cms-唐徐外,其它 3 种材料小孢子细胞质内均不能形成大液泡,而充满着许多小液泡;单核晚期,细胞核移至细胞边缘,形成较大液泡;双核期, Mol7cms-唐徐、Mol7cms-双小孢子内容物逐渐积累,体积增加,但花粉粒在成熟之前,突然崩解,剩下完好的空泡状结构。而 77cms-唐徐、77cms-M 则不能进行内容物的积累,形成充满大液泡的空腔。

## 3 玉米 CMS 败育机理

### 3.1 毒蛋白假说

该假说认为,线粒体基因组编码蛋白产物的积累可产生细胞毒性,导致线粒体膜通透性改变和功能的紊乱,从而产生败育。而育性恢复基因产物则可以与毒蛋白发生直接或间接的相互作用,从而减轻其毒害作用,使得育性得到恢复。Cui 等将玉米 T 型胞质不育相关蛋白 URF13 定位在线粒体内膜上,可能导致线粒体膜的通透性变化,而 T 胞质 CMS 育性恢复基因的产物可能通过变 URF13 与线粒体膜的结合力,来减轻 URF13 的毒性,恢复育性<sup>[9]</sup>。

Bhadula<sup>[10]</sup>、Horn<sup>[11]</sup>和 Song<sup>[12]</sup>等研究表明,大多数材料不育系线粒体能合成一特异的多肽,其中有的多肽已经证明是与 CMS 有关基因编码的,并且主要集中在小孢子败育的组织中,同时恢

复基因则可降低其丰度。

### 3.2 线粒体 RNA 编辑导致 CMS

RNA 编辑包括碱基的插入、删除或替代等,碱基的插入和删除将导致基因长度改变,引起移码突变或产生新的起始密码或终止密码等;碱基替代虽不改变基因长度,但也会引起编码氨基酸的变化,引起蛋白质结构变化,从而引起蛋白质功能异常等。

已有研究表明,CMS 与 RNA 的编辑有关。Nowak 等对小麦细胞质雄性不育的研究表明,线粒体基因 *atp9* 在第 37 位密码子处,由于单碱基突变产生一个终止密码,导致该基因的翻译终止,从而产生细胞质雄性不育。Hernould 等对烟草进行转基因研究结果表明,转化编辑后的 *atp9* 基因的植株全部可育,而转化未经编辑的 *atp9* 基因的植株绝大部分不育<sup>[13-14]</sup>。

孔进等研究了水稻红莲型不育系小孢子发育过程中线粒体基因 *atp6*、*cox II* 及嵌合基因 *orf H79* 转录本的编辑位点,结果表明 *atp6* 基因 RNA 编辑受到恢复基因的影响,在引入恢复基因的  $F_1$  中,其发生编辑的频率明显高于不育系,据此推测,水稻红莲型不育系的产生与 *atp6* 基因 RNA 编辑能力的丧失密切相关<sup>[15]</sup>。易平等也证明了水稻红莲型不育系的产生与 *atp6* 基因 RNA 编辑的关系<sup>[16]</sup>;李鹏等证明了 *cox III* 基因转录本的编辑频率较低可能引起小麦 V-CMS<sup>[17]</sup>。

### 3.3 细胞凋亡假说

细胞凋亡是生物体在一定的生理、病理条件下,为维持内环境稳定,通过自主诱发一系列基因的激活、表达及调控等作用诱导细胞死亡的生理现象。因这一死亡过程严格受到程序的控制,又称为细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)。

研究证实,CMS 发生过程中,伴随着 PCD 现象的发生。Balk 等发现向日葵 PET1-CMS 的不育花药细胞中具有染色质浓缩、DNA 片段化、形成凋亡小体等细胞凋亡特征,同时细胞色素 C 参与了这一与 CMS 有关的花药绒粘层细胞 PCD 过程的启动。Ku、Li 等对水稻雄性不育的研究也发现,小孢子的败育与花药绒粘层细胞的程序性死亡密切相关。另一方面, Frank 等提出,线粒体诱导绒粘层细胞凋亡导致不育,而恢复基因表达产

物则通过抑制线粒体的诱导作用,来阻断绒粘层细胞的异常 PCD,从而恢复育性。

## 4 玉米 CMS 育性恢复研究

### 4.1 T 胞质育性恢复研究

在玉米细胞质雄性不育研究中,T-CMS 是研究 CMS 恢复基因的一个模型。T 胞质的育性恢复受两对显性基因 *RF1* 和 *RF2* 控制,只有当两个基因都是显性时育性才能恢复,即只要有一对基因是隐性纯合的,育性就不能恢复。Wise 和 Schnable 将 *RF1* 位于第 3 条染色体上,位于 UMC97 和 UMC92 之间,距 UMC79 标记 1.1 cM;*RF2* 位于第 9 条染色体上,位于 UMC153 和 SUS1 之间,距 UMC153 标记 3.8 cM<sup>[18]</sup>。

### 4.2 S 胞质育性恢复研究

玉米 S-CMS 育性恢复主要受显性基因 *RF3* 控制,Kamps 和 Chase 将该基因定位在第 2 染色体上,位于 RFLP 标记 *wph1* 与 BNL17.14 之间,与两个标记的遗传距离均为 6.4 cM<sup>[19]</sup>。石勇刚等也利用 RFLP 技术,将 *RF3* 定位在第 2 染色体上,位于 UMC36A 和 UMC49 之间,距 UMC49 标记 4.8 cM。同时还找到了一个与 *RF3* 距离仅为 2.7 cM 的 RAPD 标记<sup>[20]</sup>。王泽立等利用 AFLP 技术,在一对近等基因系及回交群体中获得了重复性强、不育亲本和不育单株中特有的 RR<sub>6</sub> 标记,与恢复基因 *RF3* 位点相距仅 2.0 cM,并成功将其转化成 SCAR 标记,实现在育种早期世代对 *RF3* 基因的间接选择<sup>[21]</sup>。

卢彩霞等采用田间观察、室内显微镜观察和统计分析等方法,对具有玉米 S 型不育系细胞质的同质异核  $F_1$  组合、回交世代等 20 个玉米群体植株的育性性状进行系统观察分析,结果表明,S 胞质育性恢复模式为“Rf3 主效+微效恢复基因”,父本核基因组的组合模式差异导致  $F_1$  育性恢复的多样性<sup>[22]</sup>。

### 4.3 C 胞质育性恢复研究

C 胞质育性恢复基因比较复杂,前人对 C 胞质不育性恢复基因做了大量研究,但研究结果不尽相同。Josephson 证明玉米 C 型胞质不育存在 2 对互补的显性恢复基因<sup>[23]</sup>;汤继华<sup>[24]</sup>、陈伟程<sup>[25]</sup>认为玉米的 C 胞质不育的恢复受 2 对显性重叠基因控制;Khey-Pour<sup>[26]</sup>报道 C 型雄性不育的恢复性受 1 对显性基因控制;Vidakovic<sup>[27]</sup>和陈

绍江<sup>[28]</sup>等人认为 C 胞质不育的恢复基因由 3 对或 3 对以上的显性互补基因控制;Vidakovic<sup>[29-30]</sup>还报道 C 型胞质雄性不育可能存在两种不同的恢复系统。

汤继华等通过恢复系凤可 1、A619 与不育系 C237、CMo17 组配的 F<sub>2</sub> 和 BC<sub>1</sub> 分离群体的研究,结果表明,凤可 1 有 2 对重叠恢复基因 *Rf4* 和 *Rf5*,*Rf4* 定位于第 8 染色体短臂,与 SSR 标记 bnlg2307 连锁,距离为 12.3 cM;*Rf5* 定位于第 5 染色体长臂上,与 SSR 引物 bnlg1346 距离为 1.68 cM;通过对 A192 近等基因系和 BC<sub>1</sub> 分离群体的 RFLP 分子标记,将玉米的 C 型胞质不育恢复基因 *Rf4* 定位在第 8 染色体短臂上,与 RFLP 探针 np120 和 csu29 连锁<sup>[24,31]</sup>。

赵素贞等利用一个含有单基因 *Rf5* 的恢复系 6233 与 6 个 C 型不育系杂交,发现杂交组合 Cms-C77×6233 表现不育,(Cms-C77×6233)×6233 的育性表现 1:1 的分离,推测在不育系 Cms-C77 中存在一个显性抑制基因 *Rf-I*,该基因只对恢复基因 *Rf5* 具有抑制作用<sup>[32]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] Beckett J B. Classification of male-sterile cytoplasm in maize (*Zea mays* L.) [J]. Crop Science, 1971, 11 (5): 724-726.
- [2] 郑用琰. 若干玉米细胞质雄性不育类型育性机理的研究[J]. 华中农学院学报, 1982, 1(1): 44-46.
- [3] 李小琴, 刘纪麟, 万邦惠, 等. 玉米 CMS 育性恢复专效性分类系统的研究[J]. 华中农业大学学报, 1999, 18 (3): 203-206.
- [4] Pring D R, Levings C S. Heterogeneity of maize cytoplasmic genomes among male sterile cytoplasm [J]. Genetics, 1978, 89: 121-136.
- [5] 李晚忱, 荣廷昭, 雷本鸣, 等. 3 个玉米细胞质雄性不育系的选育及分组鉴定[J]. 作物学报, 2001, 27(3): 308-312.
- [6] 罗红兵, 黄璜. 玉米 GDS 细胞质雄性不育系的分类研究[J]. 玉米科学, 2008, 16(2): 8-11.
- [7] 陈伟, 刘占先, 鄂立柱, 等. 玉米细胞质雄性不育材料 CMS-P 的胞质分类研究[J]. 作物学报, 2007, 33(2): 196-200.
- [8] 夏涛, 刘纪麟. 玉米细胞质雄性不育的细胞学研究[J]. 作物学报, 1989, 15(2): 97-102.
- [9] Cui X Q, Wise R, Schnable P S. The *Rf2* nuclear restore gene of male-sterile T-cytoplasm maize [J]. Science, 1996, 272: 1334-1336.
- [10] Bhadula S K, Sawhney V K. Protein analysis during the ontogeny of normal and male sterile stamenless mutant stamens of tomato [J]. Biochem Genet, 1991, 29 (1-2): 29-41.
- [11] Horn R, Hu Sledt J E, Horstlneyer A, et al. The CMS-associated 16 kDa Protein encoded by OrfH522 in the PET1 cytoplasm is also Present in other male-sterile cytoplasm of sunflower [J]. Plant Mol. Biol., 1996, 30(3): 523-538.
- [12] Song Jiasheng, Charles Hedgcoth. A chimeric gene (*orf256*) is expressed as protein only in cytoplasmic male-sterile lines of wheat [J]. Plant Mol. Biol., 1994, 26: 535-539.
- [13] Nowak C, Kuck U. RNA editing of the mitochondrial *atp 9* transcript from wheat [J]. Nucleic Acids Res, 1990, 18: 7164-7167.
- [14] Hernould M, Suharsan S. Impairment of tapetum and mitochondria in engineered male sterile tobacco plants [J]. Plant Mol. Biol., 1998, 36: 499-508.
- [15] 孔进, 谭艳平, 陈祖玉, 等. 水稻红莲型不育系雄性配子发育过程中线粒体功能基因转录本的编辑位点研究[J]. 武汉植物学研究, 2006, 24(2): 95-99.
- [16] 易平, 汪莉, 孙清萍, 等. 红莲型细胞质雄性不育水稻线粒体 *atp6* 基因转录本的编辑位点研究[J]. 生物化学与生物物理进展, 2002, 29(5): 729-733.
- [17] 李鹏, 牟秋焕, 石运庆, 等. 不同核背景对小麦 V-CMS *cox III* 基因转录本编辑的影响[J]. 生物技术通讯, 2006 (4): 86-91.
- [18] Wise R P, Schnable P S. Mapping complementary genes in maize: positioning the *Rf1* and *Rf2* nuclear-fertility restorer loci of Texas (T) cytoplasm relative to RFLP and visible markers [J]. Theor. Appl. Genet., 1994, 88: 785-795.
- [19] Kamps T L, Chase C D. RFLP mapping of the maize gametophytic restorer-of-fertility locus (*Rf3*) and aberrant pollen transmission of the nonrestoring *Rf3* allele [J]. Theor. Appl. Genet., 1997, 95: 525-531.
- [20] 石勇刚, 郑用琰, 李建生, 等. 玉米 S 组 CMS 育性恢复基因的分子标记定位[J]. 作物学报, 1997, 23(1): 1-6.
- [21] 王泽立, 王鲁昕, 戴景瑞, 等. 运用近等基因系 (NIL)、AFLP、RFLP 和 SCAR 标记对玉米 S 组育性恢复基因 (*Rf3*) 的研究[J]. 遗传学报, 2001, 28(5): 465-470.
- [22] 卢彩霞, 铁双贵, 郑用琰. 玉米骨干自交系对 S 型细胞质雄性不育系的育性恢复特点及基因分析[J]. 河南农业科学, 2004(12): 3-6.
- [23] Josephson L M, Morgan T E. Genetics and inheritance of fertility restoration of male sterile cytoplasm in corn [A]. Proc. of the 33<sup>rd</sup> Corn and Sorghum Res. Conf. 1978.
- [24] 汤继华, 季洪强, 黄中文, 等. 玉米 C 型胞质不育恢复基因 *Rf4* 的 RFLP 定位[J]. 河南农业大学学报, 2001, 35(2): 99-102.
- [25] 陈伟程, 罗福和, 季良越. 玉米 C 型胞质雄性不育的遗传及其在生产上的应用[J]. 作物学报, 1979, 5(4): 21-28.
- [26] Khey-Pour A, Grace V E, Everett H L. Genetics of fertility

- restorations in the C-group of cytoplasmic male sterility in maize[J]. *Genetics*, 1981, 98: 379-388.
- [27] Vidakovic M. Genetics of fertility restoration in cytoplasmic male sterility of the C-type (Cms-c) in maize [J]. *Maydica*, 1988, 33: 51-64.
- [28] 陈绍江, 陈伟程. 玉米 C 型胞质雄性不育恢复基因的定位研究[J]. *河南农业大学学报*, 1989, 23(3): 201-208.
- [29] Vidakovic M, Vancetovic J, Vidakovic M. The existence of a duplicated or parallel genetic system for fertility restoration in cmsC of maize (*Zea mays* L.) [J]. *Maydica*, 1997, 42: 313-316.
- [30] Vidakovic M, Vancetovic J, Vidakovic M. Complementary genes *Rf4*, *Rf5* and *Rf6* are not the unique genetic system for fertility restoration in cmsC of maize (*Zea mays* L.) [J]. *Maize Genetics Cooperation News Letter*, 1997, 71: 10.
- [31] 汤继华, 刘宗华, 陈伟程, 等. 玉米 C 胞质不育恢复主基因 SSR 标记[J]. *中国农业科学*, 2001, 34(6): 592-596.
- [32] 赵素贞, 谢惠玲, 吴风华, 等. 玉米 C 型胞质雄性不育恢复基因 *Rf5* 的抑制基因的发现与鉴定[J]. *玉米科学*, 2007, 15(1): 67-69.

## Research Status on Mechanism of Maize Cytoplasmic Male Sterility

CHEN Bo, ZHANG Yan

(Agricultural Science Institute of Xichang College, Xichang, Sichuan 625013)

**Abstract:** Male sterility is the main way in the use of heterosis in crop breeding. Maize is one of the earliest crops that using the male sterile lines in crossbreeding. Using male sterile lines in the production of hybrid can save labor, reduce seed costs, improve seed purity and make full use of the yield potential of heterosis. The progress of maize cytoplasmic male sterility in classification, abortion cytological features and abortion mechanism and fertility restoration mechanism were reviewed.

**Key words:** maize; male sterility; current situation

### 黄金种植——铁皮石斛

#### 2012 年新农村致富好项目, 免费提供种源, 上门指导, 现金收购

铁皮石斛是一种名贵中药材, 被列为“中华九大仙草”之首, 被国际药用植物界称为“药界大熊猫”。它具有抗癌、降血糖和免疫调节等功效, 因此被人工大量采挖, 导致铁皮石斛濒临灭绝, 北京中农环宇生物技术研究所以满足市场需求, 经多年苦心钻研, 突破了铁皮石斛种植难, 生长周期长等技术难关。该所研发的铁皮石斛药用价值高, 适应全国南北方室内外种植, 具有耐旱涝、耐酸碱, 不受季节、环境和土壤限制等特点, 从种到收只需 90 d, 北京中农环宇生物技术研究所以可上门收购。种植 100 m<sup>2</sup>, 可产 13~17 kg 铁皮石斛, 收购价 1 200 元·kg<sup>-1</sup>, 详情请致电或短信至 13717770566(注明详细通信地址、姓名及邮编) 免费索取种植指南(附寄合同样本) 以便合作。

北京中农环宇生物技术研究所以 全国免费热线: 4000626889

电话: 010-80693999, 80967555 联系人: 王坤(教授) 13717770566

北京地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号

电话: 027-62324777 联系人: 周老师 13995606466 官方网址: www.hy9588.com

武汉地址: 武汉市东湖新技术开发区光谷生物城区 258 号